

同種造血幹細胞移植後の慢性移植片対宿主病と Microbiome との関連の検討

名古屋医療センター

血液内科 医員 今橋伸彦

臨床研究センター長 永井宏和

血液内科 医長 飯田浩充

感染・免疫研究部長 岩谷靖雅

名古屋第一赤十字病院

輸血部長 小澤幸泰

1. 研究の背景・目的

同種造血幹細胞移植後の慢性移植片対宿主病 (GVHD) は、移植患者の半分弱に発症し、死亡リスク増大、QOL 低下に伴う社会復帰困難をもたらす克服すべき合併症である。慢性 GVHD では、IL-17 を産生する Th17/Tc17 の増加、濾胞性ヘルパーT細胞の活性化、B細胞の活性化・B cell receptor 刺激への反応性亢進、制御性T細胞や制御性B細胞の減少などの免疫応答異常が認められ、これらが慢性GVHDの発症・維持に寄与すると考えられているが、これらの免疫応答異常がおきる原因は十分に解明されていない。¹

血液は無菌的であると考えられていたが、血液中には細菌叢が存在し、癌やHIV感染症においてそのプロファイルが量的/質的に変化していることが、最近明らかになっている。²⁻⁴ 同種造血幹細胞移植後は、前治療、GVHD、抗生剤・免疫抑制剤の使用により、血液中の細菌叢が量的・質的にダイナミックに変化している可能性がある。血液中の細菌叢の変化は、細菌が産生する代謝物 (Butyrate など) や病原体固有の構造を認識するパターン認識受容体に対する刺激の量的・質的变化をもたらし、T細胞やB細胞の活性化や分化に影響を与える可能性がある。従って、同種造血幹細胞移植後の血液中の細菌叢の変化が、免疫応答異常を促進し、慢性GVHDを増悪させている可能性があるが、この可能性はこれまで検討されていない。本研究の目的は、同種造血幹細胞移植後の血液中の細菌叢と慢性GVHDとの関連を明らかにすることである。

2. 研究の対象ならびに方法

血液疾患に対して、同種造血幹細胞移植を受け、1年以上経過し、原病が再発していな

い患者 6 例（活動性慢性 GVHD なし 3 人、活動性慢性 GVHD あり 3 人）および健常人 1 人を対象とした。同意取得後、末梢血を採取し血漿を分離した。血漿から DNA を抽出し、16S rDNA 量を Droplet Digital PCR により定量するとともに、次世代シーケンサーによる 16S rRNA シークエンス解析を行った。

3. 研究結果

血漿中に 16S rDNA の量に、活動性慢性 GVHD あり群と活動性慢性 GVHD なし群との間に有意差は認めなかった (Figure 1)。次に、16S rRNA シークエンス解析を行うために、検体中の 16S rDNA を、nanopore sequencing 用のプライマーを用いて増幅することを試みたが、DNA は増幅されず、16S rRNA シークエンス解析を行うことができなかった。

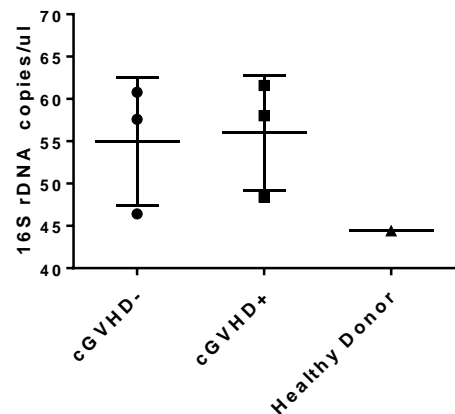


Figure 1. Plasma 16S rDNA

4. 考察

今回の検討では、活動性慢性 GVHD の有無で、血漿中の細菌叢の量に差は認めなかった。また、血漿中に含まれる 16S rDNA の量が少なく、16S rRNA シークエンス解析を行うことができなかった。解決方法としては、①16S の全長をシーケンスするナノポアシーケンサーではなく、短い領域をシーケンスするイルミナシーケンサーを用いることが考えられる。実際、血漿/血清を用いた、16S rRNA シークエンス解析を行っている既報では、イルミナシーケンサーが用いられている。²⁻³ その他の解決方法としては、症例数を増やし、血漿中の 16S rDNA 量が多い症例がないかを検討することが考えられる。

5. 文献

1) Kenneth R Cooke, Leo Luznik, Stefanie Sarantopoulos, Frances T Hakim, Madan Jagasia, Daniel H Fowler, Marcel R M van den Brink, John A Hansen, Robertson Parkman, David B Miklos, Paul J Martin, Sophie Paczesny, Georgia Vogelsang, Steven Pavletic, Jerome Ritz, Kirk R Schultz, Bruce R Blazar. The Biology of Chronic Graft-versus-Host Disease: A Task Force Report from the National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 23(2):211-234:2017.

- 2) Wanli Xu, Zhenwu Luo, Alexander V Alekseyenko, Lisa Martin, Zhuang Wan, Binhua Ling, Zhiqiang Qin, Sonya L Heath, Kendra Maas, Xiaomei Cong, Wei Jiang. Distinct systemic microbiome and microbial translocation are associated with plasma level of anti-CD4 autoantibody in HIV infection. *Sci Rep.* 8(1):12863:2018.
- 3) Zhaogang Dong, Bin Chen, Hongwei Pan, Ding Wang, Min Liu, Yongmei Yang, Mingjin Zou, Junjie Yang, Ke Xiao, Rui Zhao, Xin Zheng, Lei Zhang, Yi Zhang. Detection of Microbial 16S rRNA Gene in the Serum of Patients With Gastric Cancer. *Front Oncol.* 9:9:608:2019.
- 4) Benjamin Lelouvier, Florence Servant, Sandrine Païssé, Anne-Claire Brunet, Salah Benyahya, Matteo Serino, Carine Valle, Maria Rosa Ortiz, Josep Puig, Michael Courtney, Massimo Federici, José-Manuel Fernández-Real, Rémy Burcelin, Jacques Amar. Changes in blood microbiota profiles associated with liver fibrosis in obese patients: A pilot analysis. *Hepatology.* 64(6):2015-2027:2016.

6. 論文発表

現時点で論文化の予定はない。